

文章编号: 1000-0615(2018)02-0236-10

DOI: 10.11964/jfc.20170110677

团头鲂耐低氧F₃的建立及其在低氧环境下的生长差异

李福贵, 郑国栋, 吴成宾, 陈杰, 蒋霞云, 邹曙明*

(上海海洋大学农业部淡水水产种质资源重点实验室, 农业部团头鲂遗传育种中心, 上海 201306)

摘要: 为了构建团头鲂耐低氧新品种, 实验从鄱阳湖引进和挑选野生优良亲本为奠基群体F₀, 2009年-2011年通过群体选育获得F₁, 2011年再通过群体选育实现了F₁到F₂的传代。2012年, 以鄱阳湖选育F₂亲本和团头鲂“浦江1号”F₉亲本为基础, 经夏、秋季2次低氧胁迫, 筛选出536尾耐低氧能力强的F₂亲本, 构成团头鲂耐低氧F₂。2013年, 挑选个体大、体形好的F₂亲本(雌鱼50尾、雄鱼48尾)建立了24个F₃家系群体(2♀×2♂群体22个、3♀×2♂群体2个), 共100个F₃家系。对上述F₃家系群体进行1龄阶段的低氧胁迫养殖, 通过测定相应生长指标和耐低氧性状, 共筛选出5个快速生长家系群体(A2、A3、A18、A19和A20)和6个生长较快的家系群体(A4、A6、A17、A25、A27、A28), 微卫星分析其分别归属于20个和28个家系。结果显示, 团头鲂的生长性能指标与耐低氧性状呈正相关。在1龄阶段长时间低氧胁迫养殖条件下, 团头鲂耐低氧F₃中耐低氧能力强的家系的体质量显著大于耐低氧能力弱的家系, 选育出的团头鲂耐低氧F₃家系在2龄阶段同样保持了快速生长特征。本研究旨在建立团头鲂耐低氧F₃新品系, 以供后续团头鲂耐低氧新品种的选育。

关键词: 团头鲂; 家系群体; 低氧胁迫; 生长性状; 耐低氧

中图分类号: S 965.1

文献标志码: A

团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)属硬骨鱼纲(Osteichthyes), 鲤形目(Cypriniformes), 鲤科(Cyprinidae), 鲂属(*Megalobrama*), 是中国特有的淡水优良养殖品种, 也是我国重要的草食性经济鱼类之一^[1-2]。因其食性广、生长快、易捕捞和肉质细嫩等特点而深受人们喜爱。据FAO最新统计数据, 团头鲂产量从1980年的4.5万t增至2014年的70余万t, 近几年团头鲂养殖面积和产量较为稳定。与草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、鲤(*Cyprinus carpio*)、鲫(*Carassius auratus*)等典型的鲤科鱼类相比, 团头鲂是不耐低氧的种类, 在养殖过程中极易缺氧泛塘, 严重影响了其养殖业的可持续性。在团头鲂“浦江1号”良种^[3-4]的基础上, 进一步培育出生长性能良好的耐低氧新品种具有重要的生产价值。

关于团头鲂耐低氧新品种选育方面的研究

较少, 主要为低氧相关基因的克隆和功能研究^[5-10]。本研究采用的家系选育是鱼类新品系选育的常用方法之一^[11-16]。本研究参照团头鲂繁殖选育^[3, 17-19]和水产养殖溶解氧研究^[20-22]的相关报道, 对鄱阳湖选育F₂亲本和团头鲂“浦江1号”F₉亲本进行低氧胁迫, 筛选出耐低氧能力强的个体, 构成团头鲂耐低氧F₂亲本群体。以此为基础群体建立24个F₃家系群体(共100个家系), 对其进行长期低氧胁迫以及生长差异评估, 筛选出生长快、耐低氧的F₃家系供团头鲂耐低氧新品系选育。

1 材料与方法

1.1 团头鲂耐低氧F₂奠基群体的构建

本实验中所有实验鱼的养殖及其繁殖、选

收稿日期: 2017-01-06 修回日期: 2017-04-11

资助项目: “十二五”国家科技支撑计划(2012BAD26B00); 国家自然科学基金(31572220); 上海高校知识服务平台(ZF1206)

通信作者: 邹曙明, E-mail: smzou@shou.edu.cn

育等均在上海海洋大学农业部团头鲂遗传育种中心完成。以从鄱阳湖引进的野生优良亲本为奠基群体(F₀),2009年–2011年通过群体选育获得F₁,2011年再通过群体选育实现了F₁到F₂的传代。2012年,鄱阳湖选育F₂亲本和“浦江1号”F₉亲本养殖于3号、4号大塘(约3000 m²),降低水

位至0.8 m。7月26日,天气闷热,温度由27℃骤升至36℃,9月5日天气阴转暴雨,温度由28℃骤降至22℃,导致池塘平均溶解氧值骤降至约0.8 mg/L,历经这2次天然低氧胁迫,存活536尾耐低氧能力强的亲本,构成团头鲂耐低氧F₂奠基群体(表1)。

表1 团头鲂耐低氧F₂选育情况统计

Tab. 1 Statistics of breeding of hypoxia tolerant F₂ *M. amblycephala*

群体 population	时间 time	起始数量/尾 initial number	平均体质量/g mean body weight	天然低氧胁迫 natural hypoxia stress	存活/尾 no. of survival
F ₂ F ₂ generation	2012年7月 July 2012	1800	980	温度骤升 abrupt temperature rise	860
F ₂ F ₂ generation	2012年9月 September 2012	860	1220	温度骤降 temperature suddenly dropped	536
耐低氧F ₂ hypoxia-tolerant F ₂	2013年5月 May 2013	536	1545		

1.2 团头鲂耐低氧F₃繁殖和培育

2013年6月初,从团头鲂耐低氧F₂奠基群体中,选取体质量大、体格健壮、体形完整、色泽正常、状态良好的个体作为亲鱼(雌鱼50尾,雄鱼48尾)。雌亲鱼催产分2次注射:入池前注射第1针A2,剂量为4~5 μg/kg,4 h后注射第2针HCG和A2混合液,剂量为HCG 800~1000 IU/kg与A2 4~5 μg/kg,雄亲鱼仅注射第2针,剂量参照雌鱼减半。共建立24个F₃家系群体(2♀×2♂群体22个、2♀×3♂群体2个),共100个F₃家系,分别在室内养殖车间的24个水泥池,其编号分别为A1~A12和A17~A28(5 m×3 m×1 m)中进行交配与孵化。仔鱼出膜后第3天开始泼洒豆浆培育枝角类和桡足类等开口饵料,并投喂小球藻和轮虫,第14天开始投喂卤虫无节幼体,21 d左右开始投喂豆粕粉、小麦粉、破碎配合饲料、适口膨化饲料。

1.3 团头鲂耐低氧F₃ 1龄阶段低氧胁迫养殖和测量

团头鲂耐低氧F₃低氧胁迫养殖试验分别在室内养殖车间的24个水泥池(A1~A12, A17~A28; 5 m×3 m×1 m)中进行,室内养殖车间顶部透明板使得采光正常,但相对密闭环境可使水体低氧,每个水泥池底部配备的直径1 m的纳米曝气增氧盘可由室外鼓风机增氧,以控制养殖池的溶解氧。团头鲂耐低氧F₃孵化出苗20 d后,每个家系群体随机选取400尾,开始进行为期1年的室内低氧胁迫养殖。为保证各家系群体不同阶段

的池水溶解氧均维持低氧水平,根据天气变化调整充气量和时间或者关闭,其中2013年6月26日至10月26日水体平均溶解氧为1.97~2.38 mg/L(平均水温26.7℃),2013年10月27日至2014年4月26日平均溶解氧为3.98~4.38 mg/L(平均水温11.7℃)。以团头鲂“浦江1号”自繁后代为对照,对照组溶解氧为5.97~9.36 mg/L。分别在鱼苗出膜后养殖4.5、6.5和10.5个月共3个时期,对各个家系群体的体长、体高、体质量等生长指标进行测定。

1.4 生长性状分析

采用增重率(AGR)(养殖期间增加的重量/实际养殖时间)评价不同家系的生长性能:

$$AGRw(g/d) = (W_2 - W_1) / (T_2 - T_1)$$

式中, W_1 、 W_2 分别为 T_1 和 T_2 时的个体质量。在实验中,由于测量的时间间隔较短,团头鲂的生长指标日增长量不是很明显,所以以月平均增长量来衡量增重率、增长率与增高率,即增重率为g/月、增长率为cm/月、增高率为cm/月。为了更加全面地评价生长指标,结合本实验的具体情况,对各家系群体生长进行评价,以下的增重率、增长量和增高率均使用上面公式。

月增重率包括AGRw-1、AGRw-2和AGRw-3。AGRw-1快速生长、较快生长、一般生长家系群体的区分依据:月增重分别为>2.50、2.00~2.50与<2.00;AGRw-2快速生长、较快生长、一般生长家系群体的依据:月增重分别为>1.25、0.80~1.25与<0.80;AGRw-3快速生长、较快生长、一

般生长家系群体的依据：月增重分别为>1.00、0.50~1.00与<0.50。

月增长率包括 AGR_L-1 、 AGR_L-2 和 AGR_L-3 。依据 AGR_L-1 月增长>1.80、1.60~1.80与<1.60来区分快速生长、较快生长和一般生长家系群体；依据 AGR_L-2 月增长>0.16、0.10~0.16与<0.10来区分快速生长、较快生长和一般生长家系群体；依据 AGR_L-3 月增长>0.30、0.20~0.30与<0.20来区分快速生长、较快生长和一般生长家系群体。

月增高率包括 AGR_H-1 、 AGR_H-2 和 AGR_H-3 。依据 AGR_H-1 月增高>0.75、0.68~0.75与<0.68来区分快速生长、较快生长和一般生长家系群体；依据 AGR_H-2 月增高>0.10、0.05~0.10与<0.05来区分快速生长、较快生长和一般生长家系群体；依据 AGR_H-3 月增高>0.18、0.06~0.18与<0.06来区分快速生长、较快生长和一般生长家系群体。

最后，根据各家系群体在上述9个生长指标分类中的累积和叠加情况分别筛选出综合评价为生长较快的家系群体，通过微卫星分析鉴别出各家系归属，微卫星引物设计(*Me.Am.*_{1~Me.Am.}₁₀)和检测方法见文献^[10]。筛选出的家系群体进行荧光标记，在其2龄阶段放入大塘(约3000 m²)正常养殖，18月龄后对各家系体质量进行测量和统计分析。

1.5 耐低氧性状分析

本实验参考尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)耐低温^[23]和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)耐高温^[24]、大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)耐高温^[15, 25]研究中使用的评定指标，采用耐低氧性状(upper hypoxia tolerance, UHT)作为评定指标，计算公式：

$$UHT = \sum_{i=0.5}^K D_0 - D_i$$

式中*i*为半小时数； D_i 为在第*i*半小时的DO值； D_0 为10.1 mg/L，即实验初始饱和溶解氧DO值；*k*为存活的半小时数。实验前从每个家系群体中随机挑选30尾鱼置于低氧胁迫装置中，每半小时将溶解氧降低一半左右，记录各家系群体每一尾鱼存活时间并计算其UHT，直至全部死亡(侧翻、口张合停止)为止，最后计算平均值为该家系群体的UHT值。每一尾鱼计算方法：如1尾鱼在1 mg/L存活0.5 h之后死亡， $UHT=(10.1-5.0) \times 0.5+(5.0-2.5) \times 0.5+(2.5-1.0) \times 0.5=4.55$ (mg·h)/L。

1.6 数据分析

运用Excel 2007 计算各家系群体的月增重率、月增长率、月增高率、耐低氧性状平均值和标准差，并利用SPSS 19.0 软件对各家系群体进行生长指标(AGR_w-1 、 AGR_w-2 、 AGR_w-3 、 AGR_L-1 、 AGR_L-2 、 AGR_L-3 、 AGR_H-1 、 AGR_H-2 、 AGR_H-3)与UHT的方差分析与*t*检验及其相关性分析。

2 结果

2.1 团头鲂耐低氧F₃的生长性状统计

团头鲂耐低氧F₃孵化出苗20 d后，进行为期1年的低氧胁迫养殖。各家系群体在3个不同生长阶段的体质量、体长和体高平均值统计见表2。测量尾数为50~60尾，少部分测量尾数较少但均大于30尾。与常氧下养殖的对照相比，团头鲂耐低氧F₃各家系群体在低氧胁迫下的生长速率极显著变慢($P<0.001$)，并且在各家系群体间存在极显著差异($P<0.01$)，有些家系群体(A19、A20、A3、A2和A18)在低氧胁迫条件下的生长较快。

2.2 团头鲂耐低氧F₃各家系生长和耐低氧性状的相关分析

依据 AGR_w-1 评价各家系群体生长性能，快速生长家系群体数5个，分别为A19、A20、A3、A2和A18，较快生长家系群体8个，分别为A17、A6、A4、A26、A27、A5、A25和A28，其余11个均为一般生长家系群体；依据 AGR_w-2 评价各家系群体生长性能，快速生长家系群体数为7个，分别为A17、A16、A4、A2、A3、A20和A25，较快生长家系群体6个，分别为A12、A24、A19、A22、A27和A10，其余11个均为一般生长家系群体；依据 AGR_w-3 评价各家系群体生长性能，快速生长家系群体数为3个，分别为A5、A23和A6，较快生长家系群体8个，分别为A24、A7、A8、A28、A21、A19、A11和A27，其余13个均为一般生长家系群体(表3)。

依据 AGR_L-1 评价各家系群体生长性能，快速生长家系群体数为3个，分别为A19、A3和A20，较快生长家系群体9个，分别为A2、A18、A17、A6、A26、A4、A25、A28和A7，其余12个均为一般生长家系群体；依据 AGR_L-2 评价各家系群体生长性能，快速生长家系群体数为

表 2 团头鲂耐低氧F₃各家系群体不同生长阶段的平均生长速率Tab. 2 Average of body length, weight and height of *M. amblycephala* F₃ family groups

群体 population	第1阶段 first stage (2013年10月26日, 4.5月龄) (October 26, 2013, 4.5 months of age)			第2阶段 second stage (2013年12月26日, 6.5月龄) (December 26, 2013, 6.5 months of age)			第3阶段 third stage (2014年4月26日, 10.5月龄) (April 26, 2014, 10.5 months of age)		
	体长/cm body length	体质量/g body weight	体高/cm body height	体长/cm body length	体质量/g body weight	体高/cm body height	体长/cm body length	体质量/g body weight	体高/cm body height
	A1	7.17	8.60	2.96	7.24	9.38	2.98	7.54	9.86
A2	8.05	12.15	3.39	8.33	15.22*	3.61	8.88	15.04*	3.51
A3	8.16	11.65	3.45	8.31	15.71*	3.57	8.74	16.04*	3.63
A4	7.56	10.51	3.20	7.89	11.60	3.38	9.50	13.62	3.42
A5	7.10	9.40	2.53	7.12	10.51	3.03	8.83	15.94	3.63
A6	7.71	10.83	3.18	7.79	11.85	3.10	9.14	15.92	3.63
A7	7.31	8.46	3.20	7.32	9.79	2.88	8.54	13.21	3.40
A8	7.11	8.47	2.90	7.13	9.18	2.89	8.35	12.56	3.29
A9	6.93	7.13	2.86	7.03	7.81	2.84	7.30	8.16	2.87
A10	7.15	7.21	2.85	7.28	8.86	2.90	7.81	8.94	3.02
A11	6.23	5.61	2.59	6.38	6.23	2.55	7.48	9.24	3.00
A12	7.07	8.60	3.09	7.28	10.70	3.40	8.94	11.86	3.50
A17	7.88	11.14	3.28	8.14	14.38	3.45	8.83	15.94	3.63
A18	8.04	12.05	3.33	8.42	16.70*	3.55	8.96	15.99*	3.53
A19	8.79	16.24	3.75	9.09	12.20*	3.95	9.31	18.40*	3.75
A20	8.08	13.45	3.38	6.38	16.38*	3.50	8.93	16.36*	3.52
A21	7.00	7.14	2.71	7.13	8.65	2.72	8.05	11.86	3.23
A22	7.17	7.56	2.83	7.44	9.48	2.89	7.89	9.77	3.10
A23	6.86	6.30	2.63	6.76	6.66	2.46	8.01	10.77	3.14
A24	7.07	7.55	2.86	7.43	9.75	2.93	8.57	13.47	3.42
A25	7.48	9.28	3.09	7.83	12.03	3.21	8.51	13.87	3.49
A26	7.67	9.74	3.11	7.45	10.49	2.95	7.70	9.92	3.00
A27	7.08	9.42	3.09	7.42	11.29	3.11	8.46	13.92	3.51
A28	7.41	8.98	3.02	7.64	10.51	3.03	8.77	13.77	3.47
平均 average	7.42	9.52	3.08	7.61	11.37	3.13	8.38	13.30	3.38
对照 control	25.12**	32.24**	10.15**	27.20**	34.88**	11.66**	32.08**	42.12**	13.88**

注: **. $P < 0.001$; *. $P < 0.01$

4个, 分别为A18、A24、A25和A27, 较快生长家系群体8个, 分别为A20、A19、A2、A22、A17、A4、A28和A12, 其余12个均为一般生长家系群体; 依据AGR_L-3评价各家系群体生长性能, 快速生长家系群体数为4个, 分别为A5、A6、A8和A7, 较快生长家系群体6个, 分别为

A24、A28、A11、A23、A27和A21, 其余14个均为一般生长家系群体。

依据AGR_H-1评价各家系群体生长性能, 快速生长家系群体数为4个, 分别为A19、A3、A2和A20, 较快生长家系群体9个, 分别为A18、A17、A4、A6、A26、A12、A25、A27和A5, 其

表3 团头鲂耐低氧F₃各家系群体的月增重量(g/月)、月增长量(cm/月)与月增高量(cm/月)Tab. 3 AGR_ws, AGR_Ls and AGR_Hs of hypoxia-tolerant *M. amblycephala* family groups from F₃ generation

群体 population	月增重量(g/月) monthly weight gain			月增长量(cm/月) monthly length growth			月增高量(cm/月) monthly height increase		
	AGR _w -1	AGR _w -2	AGR _w -3	AGR _L -1	AGR _L -2	AGR _L -3	AGR _H -1	AGR _H -2	AGR _H -3
A1	1.91	0.39	0.12	1.59	0.04	0.08	0.66	0.01	0.01
A2	<i>2.70</i>	<i>1.54</i>	0.09	1.79	0.14	0.14	<i>0.75</i>	<i>0.11</i>	0.02
A3	<i>2.81</i>	<i>1.53</i>	0.08	<i>1.81</i>	0.08	0.11	<i>0.77</i>	0.06	0.01
A4	2.34	<i>1.55</i>	0.00	1.70	0.12	0.15	0.71	0.09	0.01
A5	2.09	0.56	<i>1.36</i>	1.58	0.01	<i>0.43</i>	0.68	0.01	<i>0.14</i>
A6	2.41	0.51	<i>1.02</i>	1.71	0.04	<i>0.34</i>	0.71	0.00	0.11
A7	1.88	0.66	0.86	1.62	0.01	<i>0.31</i>	0.64	<i>0.16</i>	0.05
A8	1.88	0.36	0.85	1.58	0.01	<i>0.31</i>	0.64	0.01	0.10
A9	1.58	0.34	0.09	1.54	0.05	0.07	0.64	0.04	0.01
A10	1.60	0.83	0.02	1.59	0.06	0.13	0.63	0.02	0.03
A11	1.25	0.50	0.66	1.38	0.07	0.27	0.58	0.03	0.09
A12	1.91	1.18	0.22	1.57	0.11	0.17	0.69	<i>0.16</i>	0.03
A17	2.48	<i>1.62</i>	0.39	1.75	0.13	0.17	0.73	0.09	0.05
A18	2.68	<i>1.97</i>	0.18	1.79	<i>0.19</i>	0.13	0.74	<i>0.10</i>	<i>0.01</i>
A19	<i>3.61</i>	1.08	0.70	<i>1.95</i>	0.15	0.06	<i>0.83</i>	0.00	0.05
A20	<i>2.99</i>	<i>1.47</i>	0.02	<i>1.80</i>	0.15	0.14	<i>0.75</i>	0.06	0.01
A21	1.59	0.76	0.80	1.56	0.06	0.23	0.60	0.01	<i>0.13</i>
A22	1.68	0.96	0.07	1.59	0.14	0.11	0.63	0.03	0.05
A23	1.40	0.18	<i>1.03</i>	1.52	0.05	0.26	0.58	0.02	<i>0.12</i>
A24	1.68	1.10	0.93	1.57	<i>0.18</i>	0.29	0.64	0.04	<i>0.12</i>
A25	2.06	<i>1.38</i>	0.46	1.66	<i>0.18</i>	0.17	0.69	0.06	0.07
A26	2.16	0.09	0.14	1.70	0.02	0.01	0.69	0.02	0.01
A27	2.09	0.94	0.66	1.57	<i>0.17</i>	0.26	0.69	0.01	0.10
A28	2.00	0.77	0.82	1.65	0.12	0.28	0.67	0.00	0.11
平均 average	2.12	0.93	0.48	1.65	0.09	0.19	0.68	0.05	0.06
对照 control	7.16	1.32	1.56	5.58	1.04	1.22	2.26	0.76	0.56

注: 斜体为各指标中快速增长的家系

Notes: the Italic is a fast growing family

余11个均为一般生长家系群体; 依据AGR_H-2评价各家系群体生长性能, 快速生长家系群体数为4个, 分别为A7、A12、A2和A18, 较快生长家系群体5个, 分别为A4、A17、A25、A20和A3, 其余15个均为一般生长家系群体; 依据AGR_H-3评价各家系群体生长性能, 快速生长家系群体4个, 分别为A5、A21、A24和A23, 较快

生长家系群体6个, 分别为A28、A6、A27、A8、A11和A25, 其余14个均为一般生长家系群体。

根据各家系群体在上述9个指标分类中的累积和叠加情况, 可以得知A2、A3、A18、A19和A20这5个家系群体生长迅速, A4、A6、A17、A25、A27、A28这6个家系群体生长较快, 其余13个家系群体生长一般。

各家系群体生长和耐低氧性状间主要相关性: (1)3次测量的生长指标中, 每一次的AGR_W、AGR_H和AGR_L两两之间(如AGR_W-1、AGR_H-1和AGR_L-1两两之间)都存在0.01水平上的显著正相关性, 仅有AGR_H-2和AGR_L-2的正相关性不显著; (2)AGR_W-1、AGR_H-1和AGR_L-1分别与AGR_W-2、AGR_H-2和AGR_L-2正相关; AGR_W-1/-2、AGR_H-1/2和AGR_L-1/2分别与AGR_W-3、AGR_H-3和AGR_L-3负相关; (3)UHT分别与生长性能指标AGR_W-1和AGR_H-1在0.05水平上显著正相关, 与AGR_L-1负相关性不显著; 与AGR_W-2在0.01水平正相关, 分别与AGR_H-2和AGR_L-2不显著正、负相关; UHT分别与AGR_W-3、AGR_H-3和AGR_L-3存在0.01水平正相关、不显著正相关及负相关(表4)。

2.3 团头鲂耐低氧F₃各家系群体2⁺龄生长跟踪评价

通过综合比较生长指标和低氧性状, 共筛选出5个快速生长家系群体(A2、A3、A18、A19和A20)以及6个生长较快的家系群体(A4、A6、A17、A25、A27、A28)共11个家系群体。从筛选留下来的11个家系群体中挑取生长较快的774尾个体, 结合不同荧光颜色和标记位置对每个家系群体分别进行VIE (visible implant elastomer tag)荧光标记(图1)。VIE标记之后, 2龄阶段放入大塘养殖。至18月龄时对各家系群体存活个体的生长指标进行测量与统计分析。最终存活

720尾, 平均存活率达92.99%, 经微卫星(SSR)亲子鉴定, 存活个体归属于24个家系(表5)。存活个体平均体质量达到717.8 g, 体长/体高平均值2.16, 体型较好。2015年, 已从720尾二龄个体中挑选出92尾雌鱼和56尾雄鱼, 用于家系选育和雌核发育获得耐低氧F₄。

3 讨论

3.1 团头鲂生长快速家系群体的筛选与评价

团头鲂“浦江1号”是采用群体选育技术, 针对生长和体型进行6代选育获得的良种^[3]。团头鲂“浦江1号”耐低氧性能没选育过, 还有待进一步提高。本研究显示团头鲂耐低氧F₃各家系在1龄低氧胁迫期间生长产生明显的分化, 说明低氧胁迫对团头鲂的生长具有非常大的负面影响, 这与高温、盐碱等逆境对鱼类生长的负面作用相似^[15, 26-29]。根据团头鲂“浦江1号”良种体长/体高比2.1~2.2的标准^[3-4, 30], 发现低氧胁迫实验组与对照组的形态框架指数无显著差异, 表明实验组体型继承了父母本的优良遗传特征, 低氧胁迫对团头鲂的体型特征没有显著影响。

对照组与低氧胁迫实验组的3个生长指标在不同生长阶段具有相同的变化规律。孵化后至养殖4.5月阶段生长增长最快, 第2阶段的2个月增长最慢, 第3阶段的4个月增长居中。这与3个不同时间段的温度与摄食量有密切关系。实验

表4 团头鲂耐低氧F₃生长与耐低氧性状相关分析

Tab. 4 Correlation analysis of growth and hypoxia tolerance traits of *M. amblycephala* F₃ generation

	W1	W2	W3	L1	L2	L3	H1	H2	H3	UHT
W1	1.0000									
W2	0.5979**	1.0000								
W3	-0.2436	-0.4220*	1.0000							
L1	0.9056**	0.5858**	-0.3574	1.0000						
L2	0.3610	0.7596**	-0.2900	0.3194	1.0000					
L3	-0.2594	-0.1655	0.7563**	-0.3736	-0.2373	1.0000				
H1	0.9733**	0.6390**	-0.2948	0.8627**	0.4136	-0.3127	1.0000			
H2	0.1298	0.5741**	-0.4249	0.1808	0.2851	-0.1559	0.2284	1.0000		
H3	-0.3911	-0.3042	0.8435**	-0.4871*	-0.1268	0.7826**	-0.4627*	-0.5031*	1.0000	
UHT	0.4621*	0.5087*	-0.3689	0.6014**	0.3221	-0.1425	0.4725*	0.1564	-0.2844	1.0000

注: 相关分析采用Spearman的Rho和斯皮尔曼相关系数(Rs)。**在0.01水平(双侧)上显著相关; *在0.05水平(双侧)上显著相关

Notes: the correlation analysis was based on the Rho of Spearman and the Spielman correlation coefficient (Rs). **. $P < 0.01$ (bilateral); *. $P < 0.05$ (bilateral)

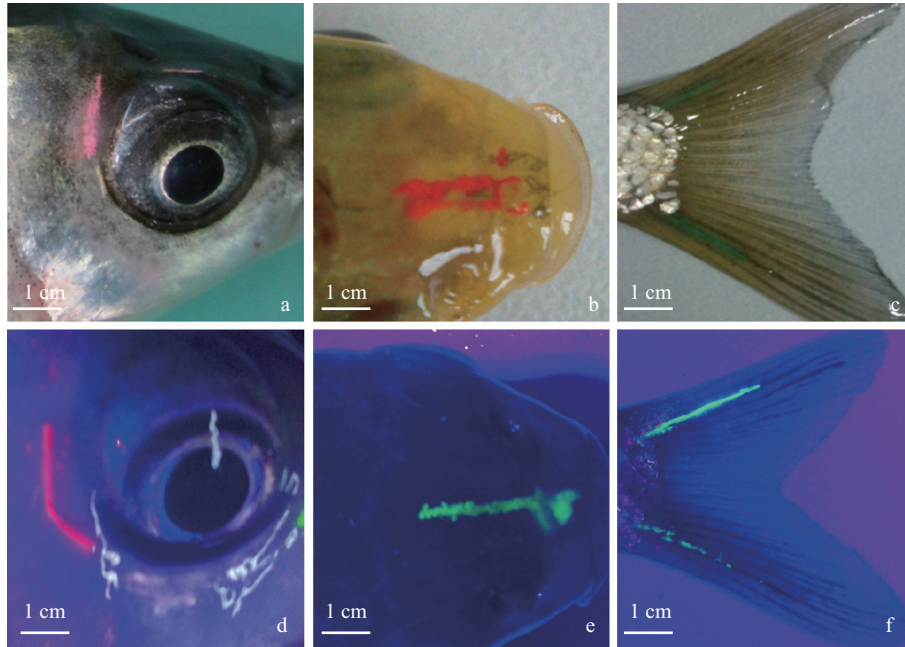


图1 团头鲂耐低氧F₃家系群体VIE荧光标记示例

a. 眼眶粉红色标记; b. 头部眼间红色标记; c. 尾鳍两侧绿色标记; d. 眼眶红色和白色荧光标记; e. 头部眼间绿色荧光标记; f. 尾鳍两侧绿色荧光标记

Fig. 1 Sample of VIE mark in F₃ family group of hypoxia-tolerant *M. amblycephala*

a. orbital pink sign; b. head eye red mark; c. caudal fin both sides green mark; d. orbit red and white fluorescence mark; e. head eye green fluorescence mark; f. tail fin both sides green fluorescence mark

表5 耐低氧F₃团头鲂家系群体18月龄
生长指标统计结果

Tab. 5 Statistical results of growth indicators of
18-month-old hypoxia-tolerant *M. amblycephala* family
groups from F₃ generation

群体 population	存活率/% survival rate	平均体质量/g mean body weight	体长/体高 bodylength/ body height
A2	83.4	768.0	2.17
A3	79.8	726.8	2.13
A18	87.8	748.2	2.10
A19	93.5	765.4	2.15
A20	99.2	724.8	2.20
A4	95.7	703.3	2.18
A6	88.9	699.7	2.19
A17	96.8	688.6	2.20
A25	99.5	679.4	2.14
A27	99.3	690.8	2.15
A28	99.0	700.7	2.16
平均 average	92.99	717.8	2.16

过程中第1阶段摄食量/体质量的比例最高, 第2阶段的比例最低, 第3阶段的比例居中, 温度变化趋势也与此相同。

3.2 团头鲂生长与耐低氧性状相关性

本实验采用斯皮尔曼相关系数(Rs)进行各家系群体生长和耐低氧性状间相关分析。每一次生长指标的测量结果两两之间都存在0.01水平的显著正相关性, 表明低氧胁迫对团头鲂体型特征没有明显影响。第1阶段与第2阶段的生长增长率呈正相关, 但它们与第3阶段的呈负相关, 说明第3阶段随着温度下降生长速率变慢。UHT与第1、2阶段的生长指标都呈显著或不显著的正相关, 但与第3阶段生长指标负相关, 说明低氧胁迫所筛选出来的个体耐低氧能力都较强。以上结果表明, 团头鲂耐低氧F₃的继代选育应该针对其第1、2阶段的生长指标开展。

筛选出的团头鲂耐低氧F₂家系群体经过2龄阶段的大塘养殖, 平均存活率达92.99%, 平均体质量由13.0 g左右增长到717.8 g, 保持了1龄阶段的生长优势。在团头鲂耐低氧F₃家系基础上,

2015年通过家系选育和雌核发育获得了F₄群体,团头鲂F₄耐低氧群体在1龄和成鱼阶段耐低氧能力突出、个体均匀、长势良好,说明团头鲂F₃品系的耐低氧能力以及生长性能是可以遗传的。

综上,筛选出的家系群体可以作为育种的奠基群体。也可结合现代育种技术进一步深入研究,利用家系(内)选择指数、合并选择指数估计各世代筛选个体的育种值及选择指数,进行世代间的选择育种。另外还可分析各家系的遗传结构,构建遗传连锁图谱,对与耐低氧优良性状紧密连锁的位点进行标记,进而进行分子标记辅助选育,加快团头鲂耐低氧新品种选育的速率。

参考文献:

- [1] Li S F, Cai W Q, Zhou B Y. Variation in morphology and biochemical genetic markers among populations of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *Aquaculture*, 1993, 111: 117-127.
- [2] Gao Z X, Luo W, Liu H, *et al.* Transcriptome analysis and SSR/SNP markers information of the blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(8): e42637.
- [3] 李思发,蔡完其.团头鲂双向选育效应研究[J].*水产学报*, 2001, 24(3): 201-205.
Li S F, Cai W Q. Two-way selective response of *Megalobrama amblycephala*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2001, 24(3): 201-205(in Chinese).
- [4] Li S F, Cai W Q. Genetic improvement of the herbivorous blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *Naga, Worldfish Center Quarterly*, 2003, 26(1): 20-23.
- [5] Shen R J, Jiang X Y, Pu J W, *et al.* HIF-1 α and -2 α genes in a hypoxia-sensitive teleost species *Megalobrama amblycephala*: cDNA cloning, expression and different responses to hypoxia[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, 157(3): 273-280.
- [6] Wang H J, Huang C X, Chen N, *et al.* Molecular characterization and mRNA expression of HIF-prolyl hydroxylase-2 (*phd2*) in hypoxia-sensing pathways from *Megalobrama amblycephala*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2015, 186: 28-35.
- [7] Tian Y M, Chen J, Tao Y, *et al.* Molecular cloning and function analysis of insulin-like growth factor binding protein 1a in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *Zoological Research*, 2014, 35(4): 300-306.
- [8] Guan W Z, Guo D D, Sun Y W, *et al.* Characterization of duplicated heme oxygenase-1 genes and their responses to hypoxic stress in blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2017, 43(2): 641-651.
- [9] Li F G, Chen J, Jiang X Y, *et al.* Transcriptome analysis of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) reveals putative differential expression genes related to growth and hypoxia[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142801.
- [10] Li F G, Xu Z N, Sun Y W, *et al.* Isolation and characterization of 36 novel EST-based microsatellite markers for blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) based on transcriptome analysis[J]. *Conservation Genetics Resources*, 2016, 8(1): 43-81.
- [11] 曾聪.团头鲂生长相关性状的形态和遗传分析[D].武汉:华中农业大学, 2012.
Zeng C. Morphological and genetic analysis of the growth traits of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*)[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012 (in Chinese).
- [12] 严福升.牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)生长相关性状遗传力估计和耐热性状初步研究[D].青岛:中国海洋大学, 2009.
Yan F S. Estimation of heritability for growth-related traits and elementary research on upper thermal tolerance in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009 (in Chinese).
- [13] 刘贤德,韦信键,蔡明夷,等.大黄鱼22个微卫星标记在F₁家系中的分离方式及与生长性状的相关分析[J].*水产学报*, 2012, 36(9): 1322-1330.
Liu X D, Wei X J, Cai M Y, *et al.* The segregation patterns of 22 microsatellite markers in an F₁ family of large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) and correlation analysis with growth-related traits[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(9): 1322-1330(in Chinese).
- [14] 徐湛宁,李福贵,郑国栋,等.团头鲂耐低氧新品系雌核发育群体遗传结构的微卫星分析[J].*水产学报*, 2017, 41(3): 330-338.
Xu Z N, Li F G, Zheng G D, *et al.* Analysis of genetic structure of gynogenetic population in new strain of hyp-

- oxia-tolerant *Megalobrama amblycephala* using microsatellite markers[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(3): 330-338(in Chinese).
- [15] 陈松林, 田永胜, 徐田军, 等. 牙鲆抗病群体和家系的建立及其生长和抗病性能初步测定[J]. *水产学报*, 2008, 32(5): 665-673.
- Chen S L, Tian Y S, Xu T J, *et al.* Development and characterization for growth rate and disease resistance of disease-resistance population and family in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, 32(5): 665-673(in Chinese).
- [16] 陈松林, 杜民, 杨景峰, 等. 半滑舌鳎家系建立及其生长和抗病性能测定[J]. *水产学报*, 2010, 34(12): 1789-1794.
- Chen S L, Du M, Yang J F, *et al.* Development and characterization for growth rate and disease resistance of families in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(12): 1789-1794(in Chinese).
- [17] 孔优佳, 陈亚宏, 花少鹏, 等. 团头鲂(*Megalobrama amblycephala* Yih)浦江1号池塘养殖技术研究[J]. *现代渔业信息*, 2002, 17(12): 17-18, 13.
- Kong Y J, Chen Y H, Hua S P, *et al.* Pond aquaculture technology research of *Megalobrama amblycephala* Pujiang No. 1[J]. *Modern Fisheries Information*, 2002, 17(12): 17-18, 13(in Chinese).
- [18] 孔优佳, 陈亚宏, 花少鹏, 等. 浦江1号团头鲂大规格鱼种培育技术研究[J]. *水产科技情报*, 2002, 29(5): 208-209, 213.
- Kong Y J, Chen Y H, Hua S P, *et al.* Studies on the rearing techniques of large size fingerling of fine improved variety of bluntnose black bream *Megalobrama amblycephala* by the name of Pujiang No. 1 [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2002, 29(5): 208-209, 213(in Chinese).
- [19] 夏玉红. 团头鲂(*Megalobrama amblycephala* Yih)人工繁殖新技术研究[J]. *现代渔业信息*, 2003, 18(8): 25-26.
- Xia Y H. A Study on new technique of artificial breeding for *Megalobrama amblycephala* Yih[J]. *Modern Fisheries Information*, 2003, 18(8): 25-26(in Chinese).
- [20] 熊向英, 黄国强, 彭银辉, 等. 低氧胁迫对鲢幼鱼生长、能量代谢和氧化应激的影响[J]. *水产学报*, 2016, 40(1): 73-82.
- Xiong X Y, Huang G Q, Peng Y H, *et al.* Effect of hypoxia on growth performance, energy metabolism and oxidative stress of *Mugil cephalus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(1): 73-82(in Chinese).
- [21] 辜晓青, 江国振, 田俊, 等. 中华绒螯蟹养殖生态气象试验研究[J]. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(1): 66-73.
- Gu X Q, Jiang G Z, Tian J, *et al.* Study on ecology and meteorology experiment of *Eriocheir sinensis* breeding[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22(1): 66-73(in Chinese).
- [22] 戴恒鑫, 李应森, 马旭洲, 等. 河蟹生态养殖池塘溶解氧分布变化的研究[J]. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(1): 66-73.
- Dai H X, Li Y S, Ma X Z, *et al.* The research of dissolved oxygen distribution in the crab ecological culture ponds[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22(1): 66-73(in Chinese).
- [23] Cnaani A, Gall G A E, Hulata G. Cold tolerance of tilapia species and hybrids[J]. *Aquaculture International*, 2000, 8(4): 289-298.
- [24] Perry G L, Martyniuk C M, Ferguson M M, *et al.* Genetic parameters for upper thermal tolerance and growth-related traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2005, 250(1-2): 120-128.
- [25] Zhang T S, Jie K, Liu B S, *et al.* Genetic parameter estimation for juvenile growth and upper thermal tolerance in turbot (*Scophthalmus maximus* Linnaeus)[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2014, 33(8): 106-110.
- [26] 曾霖, 雷霖霖, 刘滨, 等. 盐度对大菱鲆幼鱼生长和肌肉营养成分的影响[J]. *水产学报*, 2013, 37(10): 1536-154.
- Zeng L, Lei J L, Liu B, *et al.* Effects of salinities on growth and flesh quality of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(10): 1536-154(in Chinese).
- [27] 党云飞, 徐伟, 耿龙武, 等. 盐碱和pH对鱼类生长和发育的影响[J]. *水产学杂志*, 2012, 25(2): 62-64.
- Dang Y F, Xu W, Geng L W, *et al.* A review of effects of saline-alkalinity and pH on growth and development in fish[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2012, 25(2): 62-64(in Chinese).
- [28] 税春, 张海明, 施永海, 等. 盐度对梭鱼幼鱼生长、渗透生理和体成分组成的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2015, 30(6): 634-640.

- Shui C, Zhang H M, Shi Y H, *et al.* Effects of salinity on growth, osmophysiology and body composition of juvenile soiyu *Liza haematocheila*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2015, 30(6): 634-640(in Chinese).
- [29] 刘阳, 温海深, 李吉方, 等. 盐度与pH对花鲈孵化、初孵仔鱼成活及早期幼鱼生长性能影响[J]. 水产学报, 2017, 41(10): 1-11.
- Liu Y, Wen H S, Li J F, *et al.* Effects of salinity and pH on hatching and larval activity of *Lateolabrax maculatus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(10): 1-11(in Chinese).
- [30] 李思发. 鱼类良种介绍团头鲂浦江1号[J]. 中国水产, 2001(11): 52.
- Li S F. The varieties of fish *Megalobrama amblycephala* Pujiang No. 1[J]. China Fisheries, 2001(11): 52(in Chinese).

Establishment of hypoxia-tolerant F₃ generation of *Megalobrama amblycephala* and their growth performance under long-term hypoxia

LI Fugui, ZHENG Guodong, WU Chengbing, CHEN Jie, JIANG Xiayun, ZOU Shuming*

(Genetics and Breeding Center for Blunt Snout Bream, Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: On the basis of wild good broodstocks introduced from Poyang Lake (F₀ generation), the F₁ generation was obtained through population breeding from 2009 to 2011, and the passage from F₁ to F₂ was realized in 2011 through population breeding. In order to construct hypoxia tolerance strains of *M. amblycephala*, the Poyang Lake F₂ and “Pujiang No.1” F₀ broodstocks endured twice hypoxia stress in the summer and autumn in 2012, and 536 survival individuals were constructed as hypoxia-tolerant F₂ generation. In 2013, the F₂ parents (female 50, male 48) with great body weight and good body-shape were used to establish 24 F₃ family groups (22 groups of 2♀×2♂ and 2 groups of 3♀×2♂), a total of 100 F₃ families. The 100 F₃ families were cultured under hypoxia for one year from the 20th day post-hatching. By measuring the corresponding traits between growth and hypoxia tolerance, five fastest growing family groups (A2, A3, A18, A19 and A20) were selected; microsatellite analysis identified these rapidly growing individuals belonging to 20 families. Additionally, six faster growing groups (A4, A6, A17, A25, A27 and A28) belonging to 28 family were identified. Our results show that the growth performance of *M. amblycephala* was positively correlated with hypoxia-tolerance. Under long-time hypoxia stress culture at the first-year stage of F₃ families, the body weight of the families with strong hypoxia tolerance was significantly higher than that of the families with low hypoxia tolerance. The selected F₃ families with hypoxia resistant characteristics still maintained rapid growth rates at 2-year-old stage. The purpose of this study is to establish the hypoxia-tolerant F₃ generation for subsequent selection of new good breed of *M. amblycephala*.

Key words: *Megalobrama amblycephala*; family selection; hypoxia stress; growth traits; hypoxia tolerance

Corresponding author: ZOU Shuming. E-mail: smzou@shou.edu.cn

Funding projects: Key Technologies Research and Development Program of China (2012BAD26B00); National Science Foundation of China (31572220); Shanghai University Knowledge Service Platform (ZF1206)